

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

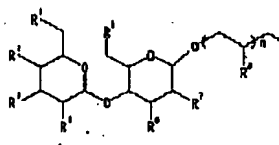
PUBLICATION NUMBER : 2000169495
PUBLICATION DATE : 20-06-00

APPLICATION DATE : 07-12-98
APPLICATION NUMBER : 10347383

APPLICANT : TAKEDA CHEM IND LTD;

INVENTOR : IKEDOU KOUJI;

INT.CL. : C07H 15/04 A61P 31/10 A61K 31/7028
A61K 31/70 C12N 1/20 C12P 19/44
/(C12P 19/44 , C12R 1:01)



TITLE : GLYCOLIPID, AND PRODUCTION AND
USE OF THE SAME

ABSTRACT : PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new compound having an antifungal activity against fungi, especially on *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger*, an therapeutic agent for fungus infection.

SOLUTION: This new compound is expressed by the formula (where R10 is a substituted hydroxyl group; R10 is an (esterified or acetylated) carbohydrate). The compound is obtained e.g. by culturing a microorganism (e.g. Cryptococcus AFB-8 strain) belonging to Cryptococcus capable of producing the compound in culture medium to form and accumulate the compound and collecting it.

COPYRIGHT: (C)2000,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-169495

(P2000-169495A)

(43) 公開日 平成12年6月20日 (2000.6.20)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード [*] (参考)
C 0 7 H 15/04		C 0 7 H 15/04	D 4 B 0 6 4
A 6 1 P 31/10		A 6 1 K 31/00	6 3 1 G 4 B 0 6 5
A 6 1 K 31/7028		31/70	6 0 7 4 C 0 5 7
31/70		31/71	4 C 0 8 6
C 1 2 N 1/20		C 1 2 N 1/20	A

審査請求 未請求 請求項の数11 O L (全 20 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平10-347383

(22) 出願日 平成10年12月7日 (1998.12.7)

(71) 出願人 000002934

武田薬品工業株式会社

大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

(72) 発明者 坂根 健

大阪府吹田市新芦屋上29番K-704号

(72) 発明者 坪谷 重利

大阪府大阪市淀川区新高2丁目6番28-1513号

(72) 発明者 土森 登

兵庫県尼崎市南武庫之荘1丁目19-6-305

(74) 代理人 100114041

弁理士 高橋 秀一 (外2名)

最終頁に続く

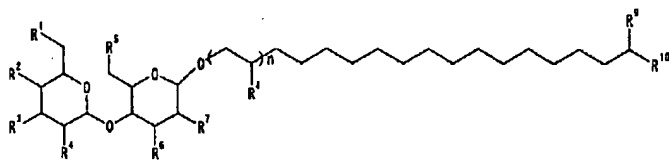
(54) 【発明の名称】 糖脂質、その製造法および用途

(57) 【要約】

【課題】新規抗真菌剤を提供する。

* 【解決手段】式

* 【化1】



(1)

〔式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 および R^9 は置換されていてもよい水酸基を、 R^{10} はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基

を、 n は0または1を示す〕で表される化合物またはその塩。

【効果】上記化合物は優れた抗真菌作用を有する。

1

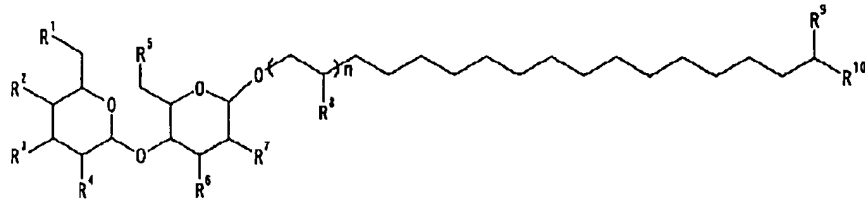
2

【特許請求の範囲】

【請求項 1】式

* 【化 1】

*



(I)

【式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 および R^9 は置換されていてもよい水酸基を、 R^{10} はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を、 n は0または1を示す】で表される化合物またはその塩。

【請求項 2】 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 および R^7 がアシル基で置換されていてもよい水酸基である請求項※

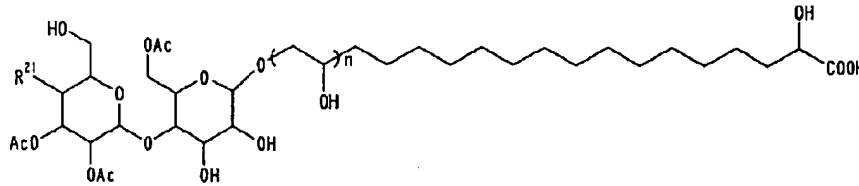
10※ 1 記載の化合物。

【請求項 3】 R^8 および R^9 が水酸基である請求項 1 記載の化合物。

【請求項 4】 R^{10} がカルボキシル基である請求項 1 記載の化合物。

【請求項 5】化合物が式

【化 2】



(II)

【式中、 R^{11} はアセチル基で置換されていてもよい水酸基を、 n は0または1を、 Ac はアセチル基を示す】で表される化合物である請求項 1 記載の化合物。

【請求項 6】請求項 1 記載の化合物を含有してなる医薬組成物。

【請求項 7】請求項 1 記載の化合物を含有することを特徴とする抗真菌剤。

【請求項 8】請求項 1 記載の化合物を含有することを特徴とする抗アスペルギルス剤。

【請求項 9】クリプトコックス属に属し、請求項 5 記載の化合物を生産する能力を有する微生物を培地に培養し、培養物中に該化合物を生成蓄積せしめ、これを採取することを特徴とする請求項 5 記載の化合物の製造法。

【請求項 10】微生物がクリプトコックス・エスピー AFB-8 株である請求項 9 記載の製造法。

【請求項 11】請求項 5 記載の化合物の生産能を有するクリプトコックス・エスピー AFB-8。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、真菌、特にアスペルギルス・フミガーツ (*Aspergillus fumigatus*) およびアスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*) に抗菌作用を有し、真菌感染症の治療剤として有用な新規糖脂質類並びにその製造法に関する。

【0002】

【従来の技術】真菌感染症は、水虫のような局所感染症とクリプトコックス症、カンジダ症、アスペルギルス症

などの全身性感染症に分けられる。後者は、病原真菌が身体の深部に感染、増殖する深在性であるために抗菌剤を投与しても治癒は容易ではなく、致死的な状態を引き起こす場合も多いことが知られている。また、臓器移植手術のために免疫抑制剤が使用されている患者や AIDS 患者のように免疫系が低下した患者は感染を受けやすく、世界的にその患者数が増加してきている。従来、全身性真菌感染症治療薬としては放線菌由来の抗生物質であるアンホテリシン B、およびフルコナゾール、イトラコナゾール等のアゾール系化学合成抗菌剤が一般的に使用されている。しかしながら、アンホテリシン B は腎および肝毒性等の副作用があることが知られており、また、低投与量では治癒効果が低い。アゾール系化学合成抗菌剤は副作用も少なく、種々の真菌感染症に対して有効性を示すことから繁用されてきているが、耐性菌の出現が報告されており、長期の連続投与治療は控えるべきであることが指摘されている。

【0003】

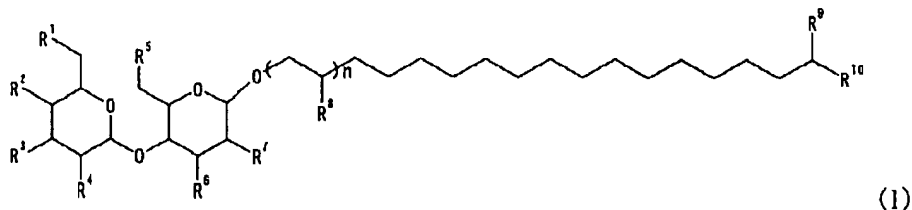
【発明が解決しようとする課題】今後、人体への副作用が少なく、さらに従来の抗真菌剤とは異なる作用機作用あるいは新規な化学構造を有する物質が要望されている。本発明は、真菌感染症に対して臨床的有用性が大いに期待できる医薬を提供するものである。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは上述した状況に鑑み、全身性真菌感染症に有用な治療薬の起源を微生物代謝産物の中に求めた。鋭意探索の結果、土壌より

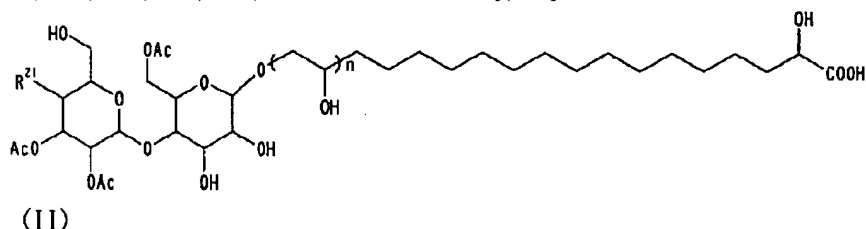
分離したクリプトコックス属に属する菌AFB-8の培養物から、真菌、特にアスペルギルス・フミガーツスおよびアスペルギルス・ニガーに抗菌作用を有する新規糖脂質類が生産されることを見いだした。本発明者らは、これ*

*らの知見に基づきさらに研究を重ね、本発明を完成した。すなわち本発明は、(1)式
【化3】



〔式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 および R^9 は置換されていてもよい水酸基を、 R^{10} はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を、 n は0または1を示す〕で表される化合物またはその塩、(2) R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 および R^7 ※

※がアシル基で置換されていてもよい水酸基である上記(1)記載の化合物、(3) R^8 および R^9 が水酸基である上記(1)記載の化合物、(4) R^{10} がカルボキシル基である上記(1)記載の化合物、(5) 化合物が式【化4】



〔式中、 R^{11} はアセチル基で置換されていてもよい水酸基を、 n は0または1を、 Ac はアセチル基を示す〕で表される化合物である上記(1)記載の化合物、(6) 上記(1)記載の化合物を含有してなる医薬組成物、(7) 上記(1)記載の化合物を含有することを特徴とする抗真菌剤、(8) 上記(1)記載の化合物を含有することを特徴とする抗アスペルギルス剤、(9) クリプトコックス属に属し、上記(5)記載の化合物を生産する能力を有する微生物を培地に培養し、培養物中に該化合物を生成蓄積せしめ、これを採取することを特徴とする請求項5記載の化合物の製造法、(10) 微生物がクリプトコックス・エスピーAFB-8株である上記(9)記載の製造法、および(11) 上記(5)記載の化合物の生産能を有するクリプトコックス・エスピーAFB-8などに関する。さらに化合物(1)またはその塩が構造中に不斉炭素を含有する場合、光学活性体およびラセミ体の何れも本発明の範囲に含まれ、化合物(1)またはその塩は水和物、無水和物のいずれでもよい。

【0005】以下に本発明を詳細に説明する。式(1)中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 および R^9 で表される置換されていてもよい水酸基としては、例えば水酸基、アシルオキシ基、置換されていてもよい炭化水素基で置換された水酸基等が用いられる。 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 および R^9 の「アシルオキシ基」の「アシル基」としては、例えば置換されていてもよいアルカノイル基、置換されていてもよいア

ロイル基、置換されていてもよい複素環カルボニル基、置換されていてもよいカルバモイル基、置換されていてもよいチオカルバモイル基、置換されていてもよいアルキルスルホニル基、置換されていてもよいアリールスルホニル基、置換されていてもよいスルファモイル基、置換されていてもよいアルコキシカルボニル基、置換されていてもよいアリールオキシカルボニル基などが挙げられる。これらの中では、例えば置換されていてもよいアルカノイル基が好ましい。該「置換されていてもよいアルカノイル基」の「アルカノイル基」としては、例えば C_{1-10} アルカノイル基(例えば、ホルミル、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリル、ペンタノイル、ヘキサノイル、ヘプタノイル、オクタノイル、ノナノイル、ラウロイル、ウンデカノイル、ミリストイル、パルミトイル、ステアロイルなど)などが挙げられ、特に C_{1-6} アルカノイル基(例えば、ホルミル、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリル、ペンタノイル、ヘキサノイルなど)などが好ましい。該「置換されていてもよいアロイル基」の「アロイル基」としては、例えば C_{7-10} アロイル基(例えば、ベンゾイル、1-ナフトイル、2-ナフトイルなどのナフトイルなど)などが挙げられる。該「置換されていてもよい複素環カルボニル基」の「複素環カルボニル基」としては、炭素原子以外にヘテロ原子(例えば、窒素、酸素、硫黄など)を1ないし4個含む5または6員複素環カルボニル基(例えば、3-ピロリルカルボニルなどのピロリルカルボニル、2-イミダゾリルカルボニルなどのイ

30

40

50

ミダゾリルカルボニル、1-ピラゾリルカルボニルなどのピラゾリルカルボニル、3-イソチアゾリルカルボニルなどのイソチアゾリルカルボニル、3-イソオキサゾリルカルボニルなどのイソオキサゾリルカルボニル、ピラジニルカルボニル、2-ビリミジニルカルボニルなどのビリミジニルカルボニル、3-ピラジニルカルボニルなどのピラジニルカルボニル、2-インドリジニルカルボニルなどのインドリジニルカルボニル、2-イソインドリルカルボニルなどのイソインドリルカルボニル、1-インドリルカルボニルなどのインドリルカルボニル、2-フロイルなどのフロイル、2-テノイルなどのテノイル、ニコチニル、イソニコチニル、モルホリノカルボニル、ビペリジノカルボニル、ビペラジノカルボニルなどなどが挙げられる。

【0005】該「置換されていてもよいカルバモイル基」は、カルバモイル基、モノ置換カルバモイル基、ジ置換カルバモイル基を含み、その置換基としては、例えば C_{1-6} アルキル基（例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチルなど）、 C_{6-14} アリール基（例えば、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチルなど）、 C_{7-16} アラールキル基（例えば、ベンジルなどのフェニル- C_{1-6} アルキルなど）、 C_{1-6} アルカノイル基（例えば、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリルなど）、 C_{7-16} アロイル基（例えば、ベンゾイル、1-ナフトイル、2-ナフトイルなど）、5または6員の複素環カルボニル基（例えば、3-ピロリルカルボニルなどのピロリルカルボニル、2-イミダゾリルカルボニルなどのイミダゾリルカルボニル、1-ピラゾリルカルボニルなどのピラゾリルカルボニル、3-イソチアゾリルカルボニルなどのイソチアゾリルカルボニル、3-イソオキサゾリルカルボニルなどのイソオキサゾリルカルボニル、ピラジニルカルボニル、2-ビリミジニルカルボニルなどのビリミジニルカルボニル、3-ピラジニルカルボニルなどのピラジニルカルボニル、2-インドリジニルカルボニルなどのインドリジニルカルボニル、2-イソインドリルカルボニルなどのイソインドリルカルボニル、1-インドリルカルボニルなどのインドリルカルボニル、2-フロイルなどのフロイル、2-テノイルなどのテノイル、ニコチニル、イソニコチニル、モルホリノカルボニル、ビペリジノカルボニル、ビペラジノカルボニルなど）などが挙げられる。該「置換されていてもよいカルバモイル基」の好ましい例としては、例えばモノ-またはジ- C_{1-6} アルカノイル-カルバモイル基（例えば、アセチルカルバモイルなど）などが挙げられる。該「置換されていてもよいチオカルバモイル基」は、チオカルバモイル基、モノ置換チオカルバモイル基、ジ置換チオカルバモイル基を含み、その置換基としては、例えば C_{1-6} アルキル基（例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチルなど）、 C_{6-14} アリール基（例えば、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチルなど）、 C_{7-16} アラールキル基（例えば、ベンジルなどのフェニル- C_{1-6} アルキルなど）などが挙げられる。該「置換されていてもよいアルコキシカルボニル基」の「アルコキシカルボニル基」としては、例えば C_{1-2} アルコキシ-カルボニル基（例えば、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニルなど）などが挙げ

ル、1-ナフチル、2-ナフチルなど）、 C_{7-16} アラールキル基（例えば、ベンジルなど）、 C_{1-6} アルカノイル基（例えば、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリルなど）、 C_{7-16} アロイル基（例えば、ベンゾイル、1-ナフトイル、2-ナフトイルなど）、5または6員の複素環カルボニル基（例えば、3-ピロリルカルボニルなどのピロリルカルボニル、2-イミダゾリルカルボニルなどのイミダゾリルカルボニル、1-ピラゾリルカルボニルなどのピラゾリルカルボニル、3-イソチアゾリルカルボニルなどのイソチアゾリルカルボニル、3-イソオキサゾリルカルボニルなどのイソオキサゾリルカルボニル、ピラジニルカルボニル、2-ビリミジニルカルボニルなどのビリミジニルカルボニル、3-ピラジニルカルボニルなどのピラジニルカルボニル、2-インドリジニルカルボニルなどのインドリジニルカルボニル、2-イソインドリルカルボニルなどのイソインドリルカルボニル、1-インドリルカルボニルなどのインドリルカルボニル、2-フロイルなどのフロイル、2-テノイルなどのテノイル、ニコチニル、イソニコチニル、モルホリノカルボニル、ビペリジノカルボニル、ビペラジノカルボニルなど）などが挙げられる。該「置換されていてもよいチオカルバモイル基」の好ましい例としては、例えばモノ-またはジ- C_{1-6} アルカノイル-チオカルバモイル基（例えば、アセチルチオカルバモイルなど）などが挙げられる。

【0006】該「置換されていてもよいアルキルスルホニル基」の「アルキルスルホニル基」としては、例えば C_{1-10} アルキルスルホニル基（例えば、メチルスルホニル、エチルスルホニル、プロピルスルホニル、イソプロピルスルホニルなど）などが挙げられ、特に C_{1-6} アルキルスルホニル基（例えば、メチルスルホニル、エチルスルホニル、プロピルスルホニルなど）などが好ましい。該「置換されていてもよいアリールスルホニル基」の「アリールスルホニル基」としては、例えば C_{6-14} アリールスルホニル基（例えば、ベンゼンスルホニル、1-ナフチルスルホニル、2-ナフチルスルホニルなど）などが挙げられる。該「置換されていてもよいスルファモイル基」は、スルファモイル基、モノ置換スルファモイル基、ジ置換スルファモイル基などを含み、その置換基としては、例えば C_{1-6} アルキル基（例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチルなど）、 C_{6-14} アリール基（例えば、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチルなど）、 C_{7-16} アラールキル基（例えば、ベンジルなどのフェニル- C_{1-6} アルキルなど）などが挙げられる。該「置換されていてもよいアルコキシカルボニル基」の「アルコキシカルボニル基」としては、例えば C_{1-2} アルコキシ-カルボニル基（例えば、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニルなど）などが挙げ

られ、特に C_{1-6} アルコキシカルボニル基（例えば、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニルなど）などが好ましい。該「置換されていてよいアリールオキシカルボニル基」の「アリールオキシカルボニル基」とは、 C_{6-14} アリールオキシカルボニル基（例えば、フェノキシカルボニル、1-ナフチルオキシカルボニル、2-ナフチルオキシカルボニルなど）などを示す。

【0007】前記の「置換されていてよい炭化水素基」の「炭化水素基」としては、例えば脂肪族炭化水素基または環状炭化水素基が用いられる。該「脂肪族炭化水素基」としては、例えば炭素数1ないし20の脂肪族炭化水素基（例えば、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基など）などが挙げられる。該「環状炭化水素基」としては、例えば炭素数3ないし20の環状炭化水素基（例えば、シクロアルキル基、シクロアルケニル基、アリール基など）などが挙げられる。該「アルキル基」は、例えば、メチル、エチル、プロピル、2-プロピル、1-エチルプロピル、ブチル、1-メチルプロピル、2-メチルプロピル、1, 1-ジメチルエチル、1, 1-ジメチルブチル、2, 2-ジメチルブチル、ペンチル、3-メチルブチル、2, 2-ジメチルプロピル、ヘキシルなどの C_{1-10} アルキル基などが好ましい。該「アルケニル基」は、例えばエチニル、2-プロピニル、2-ブチン-1-イル、3-ブチン-2-イル、1-ペンチン-3-イル、3-ペンチン-1-イル、4-ペンチン-2-イル、3-ヘキシニル-1-イルなどの C_{2-10} アルキニル基などが好ましい。該「シクロアルキル基」は、例えばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの C_{3-10} シクロアルキル基などが好ましい。該「シクロアルケニル基」は、例えばシクロブテニル、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロヘキサジエニルなどの C_{3-10} シクロアルケニル基などが好ましい。該「アリール基」は、例えばフェニル、1-ナフチル、2-ナフチルなどの C_{6-14} アリール基などが好ましい。

【0008】 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 および R^9 の「置換されていてよい水酸基」の例示としての①「置換されていてよい炭化水素基で置換された水酸基」中の「炭化水素基」および②「アシルオキシ基」の「アシル基」において「アルカノイル基、アロイル基、複素環カルボニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アルコキシカルボニル基、アリールオキシカルボニル基」が有していてもよい置換基とし

ては、本発明の目的が達成される限り、特に限定されないが、それぞれ同一または異なって、例えばアミノ基、モノ-またはジ- C_{1-6} アルキルアミノ基（例えば、メチルアミノ、エチルアミノ、プロピルアミノ、イソプロピルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノなど）、モノ-またはジ- C_{6-10} アリールアミノ基（例えば、フェニルアミノ、ジフェニルアミノなど）、モノ-またはジ- C_{7-11} アララルキルアミノ基（例えば、ベンジルアミノなどのフェニル- C_{1-5} アルキルアミノ、ジベンジルアミノなどのジ（フェニル- C_{1-5} アルキル）アミノなど）、アジド基、ニトロ基、ハロゲン（例えば、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素など）、ヒドロキシル基、 C_{1-6} アルコキシ基（例えば、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシなど）、 C_{6-10} アリールオキシ基（例えば、フェノキシ、1-ナフチルオキシ、2-ナフチルオキシなど）、 C_{7-11} アララルキルオキシ基（例えば、ベンジルオキシなど）、ホルミルオキシ基、 C_{1-6} アルキル-カルボニルオキシ基（例えば、アセトキシ、プロピオニルオキシなど）、 C_{6-10} アリール-カルボニルオキシ基（例えば、ベンゾイルオキシなど）、 C_{7-11} アララルキル-カルボニルオキシ基（例えば、ベンジルカルボニルオキシなどのフェニル- C_{1-5} アルキル-カルボニルオキシなど）、スルホニルオキシ基、 C_{1-6} アルキルスルホニルオキシ基（例えば、メチルスルホニルオキシなど）、メルカプト基、 C_{1-6} アルキルチオ基（例えば、メチルチオ、エチルチオ、プロピルチオ、イソプロピルチオなど）、 C_{6-10} アリールチオ基（例えば、フェニルチオ、1-ナフチルチオ、2-ナフチルチオなど）、 C_{7-11} アララルキルチオ基（例えば、ベンジルチオなどのフェニル- C_{1-5} アルキルチオなど）、ホスホノオキシ基、シアノ基、カルバモイル基、モノ-またはジ- C_{1-6} アルキルカルバモイル基（例えば、メチルカルバモイル、エチルカルバモイル、ジメチルカルバモイル、ジエチルカルバモイルなど）、モノ-またはジ- C_{6-10} アリールカルバモイル基（例えば、フェニルカルバモイル、ジフェニルカルバモイルなど）、モノ-またはジ- C_{7-11} アララルキルカルバモイル基（例えば、ベンジルカルバモイルなどのフェニル- C_{1-5} アルキル-カルバモイル、ジベンジルカルバモイルなどのジ（フェニル- C_{1-5} アルキル）-カルバモイルなど）、カルボキシ基、 C_{1-6} アルコキシカルボニル基（例えば、メトキシカルボニル、エトキシカルボニルなど）、 C_{6-10} アリールオキシカルボニル基（例えば、フェノキシカルボニル、1-ナフチルオキシカルボニル、2-ナフチルオキシカルボニルなど）、 C_{7-11} アララルキルオキシカルボニル基（例えば、ベンジルオキシカルボニルなどのフェニル- C_{1-5} アルキルオキシカルボニルなど）、ホルミル基、 C_{1-6} アルキル-カルボニル基（例えば、アセチル、プロピオニル、イソプロピオニル、ブチリル、ペンタノイル、ヘキサノイルな

ど)、 C_{6-10} アリール-カルボニル基(例えば、ベンゾイル、1-ナフトイル、2-ナフトイルなど)、 C_{7-11} アラルキル-カルボニル基(例えば、ベンジルカルボニルなどのフェニル- C_{1-5} アルキル-カルボニルなど)、スルホ基、 C_{1-6} アルキルスルフィニル基(例えば、メチルスルフィニル、エチルスルフィニルなど)、 C_{6-10} アリールスルフィニル基(例えば、ベンゼンスルフィニル、1-ナフチルスルフィニル、2-ナフチルスルフィニルなど)、 C_{1-6} アルキルスルホニル基(例えば、メチルスルホニル、エチルスルホニルなど)、 C_{6-10} アリールスルホニル基(例えば、ベンゼンスルホニル、1-ナフチルスルホニル、2-ナフチルスルホニルなど)、 C_{1-6} アルキル基(例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチルなど)、 C_{2-6} アルケニル基(例えば、ビニル、アリル、2-ブテニルなど)、 C_{2-6} アルキニル基(例えば、エチニル、プロパルギルなど)、 C_{3-6} シクロアルキル基(例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルなど)、 C_{3-6} シクロアルケニル基(例えば、シクロブテニル、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロヘキサジエニルなど)、 C_{6-10} アリール基(例えば、フェニル、1-ナフチル、2-ナフチルなど)、1ないし3環式複素環基(例えば、窒素、酸素、硫黄から選ばれたヘテロ原子を1ないし4個含む5または6員の単環式、二環式または三環式複素環基:ピリジル、ピラジル、ピリミジル、キノリル、イソキノリル、インドリル、イソインドリル、インダゾリル、ピリダジニル、イミダゾリル、ピラゾリル、ピロリル、フリル、ベンゾフラニル、チエニル、ベンゾチエニル、ベンズイミダゾリル、キナゾリル、ピロリジニル、ピロリニル、イミダゾリジニル、イミダゾリニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ピペリジル、ピペラジニル、インドリジル、イソインドリジル、モルホリニルなど)、1ないし3環式複素環チオ基(例えば、前記の複素環基にチオ基が結合した基、具体的には、4-ピリジルチオなどのピリジルチオ、2-ピリミジルチオなどのピリミジルチオ、1,3,4-チアジアゾール-2-イルチオなどのチアジアゾリルチオ、5-テトラゾリルチオなどのテトラゾリルチオ、2-ベンゾチアゾリルチオなどのベンゾチアゾリルチオ、8-キノリルチオなどのキノリルチオなど)などが用いられる。これらの置換基は、前記「炭化水素基」および「アルカノイル基、アロイル基、複素環カルボニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アルコキシカルボニル基、アリールオキシカルボニル基」上に化学的に許容される範囲において置換され、この置換基の数は1ないし5、好ましくは1ないし3個である。ただし、置換基の数が2個以上の場合には同一または異なってもよい。これらの置換基は、化学的に許されるならば、さらに、アミノ基、モノ-またはジ- C_{1-6} アルキルアミノ基、ニトロ

基、ハロゲン、ヒドロキシ基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{1-6} アルキル-カルボニルオキシ基、スルホニルオキシ基、 C_{1-6} アルキルスルホニルオキシ基、メルカプト基、 C_{1-6} アルキルチオ基、ホスホノオキシ基、シアノ基、カルバモイル基、モノ-またはジ- C_{1-6} アルキルカルバモイル基、カルボキシ基、 C_{1-6} アルコキシカルボニル基、ホルミル基、 C_{1-6} アルキル-カルボニル基、スルホ基、 C_{1-6} アルキルスルフィニル基などから選ばれる1ないし3個の置換基で置換されていてもよい。

【0009】式(1)中、 R^{10} で表される「エステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシ基」中、「エステル化されたカルボキシ基」としては、例えば、薬理的に許容されうるもの、あるいは生体内においてはじめて薬理的に許容されうるものに変化するものなどが用いられる。エステル化されたカルボキシ基としては、例えば、式- $COOR^{11}$ 〔式中、 R^{11} は置換されていてもよい炭化水素基を示す〕で表される基などが好ましい。 R^{11} で表される炭化水素基は、前述の炭化水素基と同様のものなどが用いられる。このような炭化水素基は、置換可能な位置に、前述の炭化水素基における置換基と同様な置換基を1ないし3個有していてもよい。式(1)中、 R^{10} で表される「エステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシ基」中、「アミド化されたカルボキシ基」としては、例えば、薬理的に許容されうるもの、あるいは生体内においてはじめて薬理的に許容されうるものに変化するものが用いられる。アミド化されたカルボキシ基としては、例えば、式- $CON(R^{12})R^{13}$ 〔式中、 R^{12} および R^{13} は、同一または異なって水素原子あるいは置換されていてもよい炭化水素基を示す〕で表される基などが好ましい。 R^{12} および R^{13} で表される置換されていてもよい炭化水素基は、 R^{11} と同様のものが用いられる。式(1)中、 n は0または1を示す。式(1)中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 および R^7 は、好ましくはアシル基で置換されていてもよい水酸基であり、特に好ましくはアセチル基で置換されていてもよい水酸基である。式(1)中、 R^8 および R^9 は好ましくは水酸基である。式(1)中、 R^{10} は好ましくはカルボキシ基である。

【0010】次に、本発明における化合物の製造法について述べる。式(1)において R^1 、 R^6 、 R^7 、 R^8 および R^9 が水酸基、 R^2 がアセチル基で置換されていてもよい水酸基、 R^3 、 R^4 および R^5 がアセトキシ基、 n が0または1である化合物AFB-8- A_1 、 A_2 、 B_1 および B_2 （以下「AFB-8類」と称することもある）は、微生物を用いることにより製造できる。本製造法に使用される微生物としてはクリプトコックス属に属し、AFB-8類を生産する能力を有する微生物であれば何れのものでもよい。その一例としては、沖縄県の土壌から新たに分離されたAFB-8株があげられる。

【0011】本菌株は以下の性質を示す。

1. 形態学的特徴

AFB-8株は、酵母エキス-麦芽エキス寒天平板 (YM agar) 上で、平滑ないし細かな皺を有する表面の、円形、灰白色のコロニーを形成する。細胞の形および大きさは多様であり、球形、レモン型、楕円形、長楕円形を示し、大きさは (3-5) x (5-20) μm である。発芽で増殖し、その発芽基部は比較的幅広い。主に長軸極から発芽するが、側辺部からも発芽する。一部の細胞は夾膜を有する。YM液体培地では液面部に厚い菌膜を形成し、底部には多量の沈殿を生じる。液部分はわずかに濁る程度である。コーンミール寒天平板 (Corn meal agar) 上では、平滑な表面、乳白色のコロニーを形成する。コロニー外縁部から根状に菌糸が広がり、寒天内部へも伸長する。細胞は、楕円形、長楕円形、レモン型細胞の他、やや伸長した細胞が連鎖した偽菌糸 (pseudohypha)、および未発達ではあるが分枝を持つ真性菌糸 (true hypha) を生じる。かすがい連結構造 (clump connection) は見られない。麦芽エキス寒天培地 (Malt agar) で培養すると、コロニーおよび細胞の形状はYM寒天培地培養のときと同様であるが、細胞内に発達した油滴 (oil drop) を形成する。酵母エキス-麦芽エキス寒天培地、麦芽エキス寒天培地およびコーンミール寒天培地で24℃、6週間培養後も、いずれの培地でも子嚢胞子、射出胞子、および有性世代の存在を示す器官の形成は見られない。

2) 生理学的性質

28℃で培養し、2ないし28日間に観察したAFB-8株の生理学的性質は表1に示した通りである。試験法および培地はカーツマンとフェル編、ザ・イースト第4版 (1998年) (C. P. Kurtzman and J. W. Fell, The Yeasts, A Taxonomic Study, 4th edition) に記載されている方法を用いた。

【0012】

【表1】

炭素源の資化性：グルコース	陽性
ラクトース	陽性
イノシトール	陽性
グルクロン酸	陽性
硝酸塩の資化性	陰性
醗酵性 (グルコースからガスの生成)	陰性
ジアゾニウムブルーBでの染色反応	陽性
ウレアーゼ反応	陽性
澱粉様物質の生成	陽性
生育温度範囲	5~30℃
生育適正温度	20~28℃

【0013】以上の菌学的性状から、本菌株は担子菌系の無性型 (anamorphic) 酵母の中でもクリプトコックス (Cryptococcus) 属に属する酵母であることが明らかにされた。カーツマンとフェル編、ザ・イースト第4版

(1998年) (C. P. Kurtzman and J. W. Fell, The Yeasts, A Taxonomic Study, 4th edition) に記載されているクリプトコックス属およびその近縁属の菌種と比較したところ、クリプトコックス・フミコルス (Cryptococcus humicolus) に近縁であることが判明した。しかしながら、クリプトコックス・フミコルスは、麦芽エキス寒天上で深い皺を有する、黄色のコロニーを形成する、YM寒天上では伸長した円筒状の細胞を形成する点において本菌株とは差異が認められた。無性型酵母において、形態学的特徴は同定のための重要な鑑別点のひとつにされており、AFB-8株はクリプトコックス・フミコルスとは異なる新菌種であると思われるが、種を明確に区別する他の性状は見いだされていないため、本菌株をクリプトコックス・エスピー (Cryptococcus sp.) と同定した。

【0014】本菌株は、平成10年10月22日に財団法人発酵研究所 (IFO) に受託番号 IFO10934 として寄託されており、また平成10年11月24日に日本国通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所 (NIBH) に受託番号 FERM BP-6581 としてブタベスト条約に基づいて寄託されている。クリプトコックス属菌は、微生物の一般的性質として自然的または変異剤によって変異を起こしうる。たとえばX線、ガンマ線、紫外線等の放射線の照射、種々の薬剤による処理または薬剤を含有する培地上での培養、その他の手段で変異させて得られる多くの変異株、あるいは自然的に得られる突然変異株であっても、化合物AFB-8類を生産する性質を有するものはすべて本発明の方法に利用できる。

【0015】本発明方法の培養に用いられる培地は、用いられる菌株が利用し得る栄養源を含むものなら液状でも固体状でもよいが、大量に処理するとき液体培地を用いるのがより適当である。培地には、当該化合物生産菌が同化し得る炭素源、窒素源、無機物質、微量栄養源を適宜配合する。炭素源としては、例えばグルコース、乳糖、ショ糖、麦芽糖、デキストリン、澱粉、グリセリン、マンニトール、ソルビトール、油脂類 (綿実油、大豆油、ラード油、チキン油など)、n-パラフィンなどが、窒素源としては、例えば、肉エキス、酵母エキス、麦芽エキス、乾燥酵母、大豆粉、コーン・スティープ・リカー、ペプトン、生大豆粉、綿実粉、トマトペースト、ビーナッツミール、廃糖蜜、尿素、アンモニウム塩類 (硫酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硝酸アンモニウム、酢酸アンモニウムなど) などを用いる。さらに、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどを含む塩類、鉄、マンガン、亜鉛、コバルト、ニッケルなどの金属塩類、リン酸、ほう酸、硫酸などの塩類や酢酸、プロピオン酸などの有機酸の塩類を適宜用いてもよい。その他、アミノ酸 (グリシン、グルタミン酸、アスパラギン酸、アラニン、リシン、メチオニン、プロリン

など)、ペプチド(ジペプチド、トリペプチドなど)、ビタミン類(B_1 、 B_2 、ニコチン酸、 B_{12} 、Cなど)、核酸類(プリン、ピリミジン、その誘導体など)などを含ませてもよい。もちろん、培地中のpHを調整する目的で無機または有機の酸またはアルカリ類、緩衝剤などを加え、あるいは消泡の目的で油脂類、界面活性剤などの適量を添加して差し支えない。培養の手段は静置培養、振とう培養あるいは通気攪拌培養法等の手段を用いても良い。大量の処理には、いわゆる深部通気攪拌培養によるものが望ましい。培養の条件は培地の状態、組成、菌株の種類、培養の手段によって異なるが、通常、約10℃～30℃の温度、初発pH約4～7付近を選択するのがよい。とりわけ培養中期の温度は約25℃～30℃の温度、初発pH約6～7の条件が望ましい。培養時間も前記の諸条件により一定しないが、諸生理活性物質濃度が最大となるまで培養するのが望ましい。これに要する時間は、液体培地を用いる振とう培養または通気攪拌培養の場合、通常約1～5日間である。

【0016】上記のように培養することによって、後述する化合物AFB-8類が生成蓄積され、化学的性質に従って培養物から抽出、精製することが可能である。培養物から目的とする化合物AFB-8類を採取する方法を以下に述べる。該化合物は脂溶性であるので、この性質を利用する一般手段を採用すればよい。まず培養物または培養濾過液を水と混和しない有機溶媒、例えばジクロロメタン等のハロゲン化炭化水素類、酢酸エチル等のエステル類、メチルイソブチルケトン等のケトン類あるいはイソブタノール等のアルコール類などを加え、AFB-8類を抽出する。得られた有機溶媒層を水で洗浄後、濃縮するとAFB-8類を含有する粗物質が得られる。粗物質をさらに精製し、純粋なAFB-8類を得るには周知の種々のクロマトグラフィー法が有利に用いられる。担体としては活性炭、シリカゲル、微結晶セルロース、吸着性樹脂など化合物の吸着性の差を利用するもの、または分子ふるい性樹脂など化合物の分子量の差を利用するもの等が有利に用いられる。これら担体から目的とする化合物を溶出するためには担体の種類、性質によって組み合わせが異なるが、適当な有機溶媒(例、ジクロロメタン、クロロホルム等のハロゲン化炭化水素類、ヘキサン等の脂肪族炭化水素類、トルエン等の芳香族炭化水素類、酢酸エチル等のエステル類、アセトン等のケトン類、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコール、イソブタノール等のアルコール類、アセトニトリル等のニトリル類など)、有機酸(例、酢酸、ギ酸等)、水溶液(例えば、水、アルカリ(例、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸水素ナトリウム等)含有水溶液、酸(例、塩酸、酢酸、ギ酸、リン酸等)含有水溶液、塩類含有水溶液(例、食塩水、酢酸緩衝液、リン酸緩衝液等)など)の単独あるいは適宜の割合の混合溶媒が用いられる。さらに詳しくは、担体としてクロマト

用活性炭(武田薬品工業社製)、キーゼルゲル60(メルク社製、ドイツ)、微結晶セルロース〔例、アビセル(旭化成社製)、フナセル(フナコシ株式会社製)等〕、吸着性樹脂〔例、ダイヤイオンHP-20、セバピーズSP-207またはSP-850(三菱化学社製)、アンバーライトXAD-1またはII(ローム・アンド・ハース社製、米国)等〕、分子ふるい性樹脂〔例、セファデックスLH-20(ファルマシア社製、スウェーデン)等〕などが有利に用いられる。また、本発明においては目的化合物を精製する場合に、分取用高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法も有利に用いられる。この方法を適用する場合、担体としてはオクタデシルシラン(ODS)系、ポリマー系およびシリカゲル系のものが有利に用いられる。例えばODSの場合、YMCゲル(ワイエムシイ社製)あるいはTSKゲル(東ソー社製)などが、ポリマー系の場合、ポリマーにオクタデシル基を導入したODP(旭化成社製)あるいはポリマーにポリアミンを導入したNH2P(旭化成社製)などが用いられ、移動相としては水、酸含有水溶液、塩類含有水溶液、メタノール、アセトニトリルなどの単独あるいは適宜の割合の混合溶液が有利に用いられる。さらに、本発明においては目的化合物を精製する場合に結晶化も有利に用いられる。結晶化に用いる溶媒としては、例えばクロロホルム、酢酸エチル、エーテル、ヘキサンなどの単独あるいは適宜の割合の混合溶液が用いられる。

【0017】後述する実施例2で得られたAFB-8類の物理化学的性質を以下に示す。

AFB-8-A₁

1) 外観：白色粉末

2) 分子量：FAB-マスマススペクトル； m/z 2823 ($M-H$)⁺

3) 元素分析値：(%) (水分1モルとして計算)

計算値：C, 54.15; H, 7.89

実測値：C, 54.43; H, 7.63

4) 分子式：C₃₈H₅₄O₁₀

5) UVスペクトル：

メタノール中；末端吸収

6) IRスペクトル：KBr錠剤中、主な吸収を示す(波数, cm^{-1})。

3430, 2920, 2850, 1750, 1370, 1250, 1230, 1040

7) ¹³C NMR スペクトル：75 MHz, DMSO-d₆ 中、 δ ppm
以下のシグナルが認められる(図1)

175.9, 170.2, 169.5, 169.1, 169.0, 102.9, 99.4, 80.8, 74.2, 73.5, 73.0, 72.5, 71.1, 69.6, 68.9, 68.4, 62.9, 59.9, 33.9, 33.0, 29.1, 29.0, 28.9, 28.8, 24.9, 24.6, 20.5, 20.3, 20.2, 20.1

8) 呈色反応：陽性；リンモリブデン酸、モーリッシュ陰性；ドラージェンドルフ、ニンヒドリン

9) 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)：

カラム; YMC-Pack A-312, ODS, 6.0 x 150 mm (ワイエムシイ社製)

移動相; 50% (v/v) アセトニトリル / 0.05% トリフルオロ酢酸水

流速; 1.0 ml / 分

検出法; 214 nm

保持時間; 12.5 分

10) 薄層クロマトグラフィー (TLC):

担体; シリカゲル 60 F₂₅₄ (メルク社製, ドイツ)

展開溶媒; クロロホルム / メタノール / 酢酸 (16:4:1)

Rf 値; 0.31

【0018】AFB-8-A₂

1) 外観: 白色粉末

2) 比旋光度: -12° (c 0.52, メタノール, 21°C)

3) 分子量: FAB-マスマスペクトル; m/z 781 (M-H)⁻

4) 元素分析値: (%) (水分2モルとして計算)

計算値; C, 52.80; H, 8.12

実測値; C, 52.86; H, 7.69

5) 分子式: C₃₆H₆₂O₁₈

6) UVスペクトル:

メタノール中; 末端吸収

7) IRスペクトル: KBr 錠剤中, 主な吸収を示す (波数, cm⁻¹).

3390, 2920, 2850, 1740, 1370, 1250, 1050

8) ¹³C NMR スペクトル: 75 Mz, DMSO-d₆ 中, δ ppm

以下のシグナルが認められる (図2)

175.8, 170.2, 169.6, 169.1, 102.9, 99.7, 80.9, 76.3, 75.2, 74.3, 74.1, 73.0, 71.6, 71.2, 69.5, 68.9, 67.6, 63.0, 60.4, 33.8, 33.0, 29.1, 29.0, 28.9, 28.7, 24.9, 24.6, 20.6, 20.5, 20.2

9) 呈色反応: 陽性; リンモリブデン酸、モーリッシュ陰性; ドラージェンドルフ、ニンヒドリン

10) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC):

カラム; YMC-Pack A-312, ODS, 6.0 x 150 mm (ワイエムシイ社製)

移動相; 50% (v/v) アセトニトリル / 0.05% トリフルオロ酢酸水

流速; 1.0 ml / 分

検出法; 214 nm

保持時間; 7.9 分

11) 薄層クロマトグラフィー (TLC):

担体; シリカゲル 60 F₂₅₄ (メルク社製, ドイツ)

展開溶媒; クロロホルム / メタノール / 酢酸 (16:4:1)

Rf 値; 0.13

【0019】AFB-8-B₁

1) 外観: 白色粉末

2) 分子量: FAB-マスマスペクトル; m/z 779 (M-H)⁻

3) 元素分析値: (%) (水分2モルとして計算)

計算値; C, 54.12; H, 7.82

実測値; C, 54.40; H, 7.69

4) 分子式: C₃₆H₆₀O₁₈

5) UVスペクトル:

メタノール中; 末端吸収

6) IRスペクトル: KBr 錠剤中, 主な吸収を示す (波数, cm⁻¹).

3450, 2920, 2850, 1750, 1370, 1250, 1230, 1040

7) ¹³C NMR スペクトル: 75 Mz, DMSO-d₆ 中, δ ppm

以下のシグナルが認められる (図3)

175.8, 170.2, 169.5, 169.2, 169.0, 102.4, 99.5, 80.9, 74.5, 73.5, 72.9, 72.5, 71.1, 69.5, 68.8, 68.4, 62.9, 59.9, 33.8, 29.2, 29.0, 28.9, 28.8, 28.7, 25.4, 24.6, 20.5, 20.3, 20.2, 20.1

8) 呈色反応: 陽性; リンモリブデン酸、モーリッシュ陰性; ドラージェンドルフ、ニンヒドリン

20 9) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC):

カラム; YMC-Pack A-312, ODS, 6.0 x 150 mm (ワイエムシイ社製)

移動相; 50% (v/v) アセトニトリル / 0.05% トリフルオロ酢酸水

流速; 1.0 ml / 分

検出法; 214 nm

保持時間; 14.8 分

10) 薄層クロマトグラフィー (TLC):

担体; シリカゲル 60 F₂₅₄ (メルク社製, ドイツ)

展開溶媒; クロロホルム / メタノール / 酢酸 (16:4:1)

Rf 値; 0.41

【0020】AFB-8-B₂

1) 外観: 白色粉末

2) 比旋光度: -15° (c 0.66, メタノール, 21°C)

3) 分子量: FAB-マスマスペクトル; m/z 737 (M-H)⁻

4) 元素分析値: (%) (水分2モルとして計算)

40 計算値; C, 52.70; H, 8.07

実測値; C, 52.65; H, 7.69

5) 分子式: C₃₄H₅₈O₁₇

6) UVスペクトル:

メタノール中; 末端吸収

7) IRスペクトル: KBr 錠剤中, 主な吸収を示す (波数, cm⁻¹).

3430, 2920, 2850, 1750, 1370, 1250, 1040

8) ¹³C NMR スペクトル: 75 Mz, DMSO-d₆ 中, δ ppm

以下のシグナルが認められる (図4)

50 175.8, 170.2, 169.6, 169.1, 102.4, 99.7, 81.0, 76.

17

18

3, 75.2, 74.7, 72.9, 71.6, 71.1, 69.5, 68.8, 67.6, 63.0, 60.4, 33.8, 29.2, 29.0, 28.9, 28.8, 28.7, 25.4, 24.6, 20.6, 20.5, 20.2

9) 呈色反応: 陽性; リンモリブデン酸、モーリッシュ陰性; ドラゲンドルフ、ニンヒドリン

10) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC):

カラム: YMC-Pack A-312, ODS, 6.0 x 150 mm (ワイエムシイ社製)

移動相: 50% (v/v) アセトニトリル / 0.05% トリフルオロ酢酸水

流速: 1.0 ml / 分

* 検出法: 214 nm

保持時間: 9.0分

11) 薄層クロマトグラフィー (TLC):

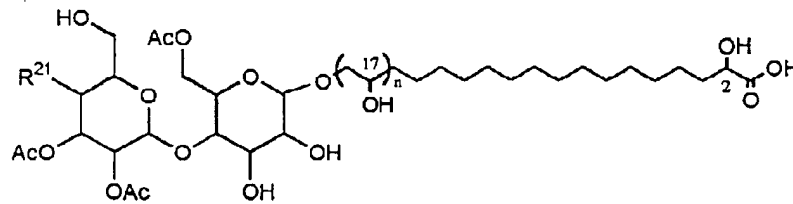
担体: シリカゲル 60 F₂₅₄ (メルク社製, ドイツ)

展開溶媒: クロロホルム / メタノール / 酢酸 (16:4:1)

Rf 値: 0.20

【0021】 AFB-8 類の構造式は下記式の通りである。

【化5】



AFB-8-A₁: n=1, R²¹=OAc

AFB-8-A₂: n=1, R²¹=H

AFB-8-B₁: n=0, R²¹=OAc

AFB-8-B₂: n=0, R²¹=H

【0022】式(I)においてR¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸またはR⁹が炭化水素基で置換された水酸基である化合物またはその塩は、例えば式(I)においてR¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸またはR⁹が水酸基である化合物またはその塩を、塩基の存在下、脱離基を有する化合物と反応させることにより製造することができる。反応に際して、原料の反応に関与すべきでない官能基の保護、ならびにその保護基の脱離などは、自体公知の手段から適宜選択しうる。脱離基を有する化合物とは、化学反応によって容易に置換される官能基を有する化合物を表し、具体的にはハロゲン化物

(例、ヨウ化メチル、ヨウ化エチル、ヨウ化プロピル、ヨウ化イソプロピル、ヨウ化ブチル、ヨウ化ペンチル、臭化アリル、臭化ベンジル等)、スルホン酸エステル類(例、メタンスルホン酸メチル、p-トルエンスルホン酸メチル、p-トルエンスルホン酸エチル、ベンゼンスルホン酸メチル、トリフルオロメタンスルホン酸メチル、トリフルオロメタンスルホン酸エチル等)、硫酸エステル類(例、ジメチル硫酸、ジエチル硫酸等)などが用いられる。塩基としては、例えば水素化アルカリ金属(例、水素化ナトリウム、水素化カリウム等)、水素化アルカリ土類金属(例、水素化カルシウム等)、アルカリ金属のアルコキシド(例、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド等)、アルカリ金属の水酸化物(例、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等)、アルカリ金属の炭酸塩(例、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素ナトリウム等)、アルカリ土類金属の水酸化物(例、水酸化カルシウム等)、3級アミン(例、トリメチルアミ

ン、トリエチルアミン、トリブチルアミン、N-メチルピペリジン、N-メチルピロリジン、シクロヘキシルジメチルアミン、N-メチルモルホリン等)、2級アミン(例、ジ-n-ブチルアミン、ジイソブチルアミン、ジシクロヘキシルアミン等)、芳香族塩基(例、ピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、ルチジン、コリジン等)、アルキルリチウム(例、メチルリチウム、ブチルリチウム等)などが用いられる。本反応は通常溶媒中で行われる。該溶媒としては、例えばアミド類(例、ホルムアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン等)、スルホキシド類(例、ジメチルスルホキシド等)、芳香族塩基類(例、ピリジン等)、ハロゲン化炭化水素類(例、クロロホルム、ジクロロメタン等)、エーテル類(例、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等)、ニトリル類(例、アセトニトリル等)、エステル類(例、酢酸エチル、ギ酸エチル等)など、あるいはこれらの適宜の割合の混合物などが挙げられる。反応温度は、反応が進行する限り特に限定されないが、通常-70℃ないし150℃、好ましくは-30℃ないし80℃で行われる。反応時間は、用いられる原料、塩基、反応温度、溶媒の種類により異なるが、通常数十分から数十時間反応させる。

【0023】式(I)においてR¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸またはR⁹がアシルオキシ基である化合物またはその塩は、例えば式(I)においてR¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸またはR⁹が水酸基である化合物またはその塩を、アシル化反応に付することにより製造することができる。反応に際して、原料の反

応に関与すべきでない官能基の保護、ならびにその保護基の脱離などは、自体公知の手段から適宜選択しうる。水酸基のアシル化は、溶媒中で原料化合物とアシル化剤、例えば有機酸（例、有機カルボン酸等）あるいはその反応性誘導体を反応させることにより行なうことができる。有機酸の反応性誘導体としては、例えば酸ハライド、酸無水物、活性エステルなどが用いられ、このような反応性誘導体を具体的に述べると次の通りである。

1) 酸ハライド

ここで酸ハライドとしては、例えば酸クロリド、酸プロミドなどが用いられる。

2) 酸無水物、混合酸無水物

ここで酸無水物としては、例えば脂肪族カルボン酸（例、酢酸、吉草酸、ヘキサノ酸等）または芳香族カルボン酸（例、安息香酸等）からなる混合酸無水物あるいは対称型酸無水物などが用いられる。

3) 活性エステル

ここで活性エステルとしては、例えばメチルエステル、エチルエステル、メトキシメチルエステル、プロパルギルエステル、4-ニトロフェニルエステル、2,4-ジニトロフェニルエステル、トリクロロフェニルエステル、ペンタクロロフェニルエステル、メシルフェニルエステルなどのエステルの他、1-ヒドロキシ-1H-2-ピリドン、N-ヒドロキシコハク酸イミド、N-ヒドロキシフタルイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)などとのエステルが用いられる。カルボン酸と直接反応させる場合には、例えばN,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、塩酸 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(WSC)、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド(DIC)などの縮合剤が用いられる。これらの縮合剤は、上述の活性エステル、例えば1-ヒドロキシ-1H-2-ピリドン、N-ヒドロキシコハク酸イミド、N-ヒドロキシフタルイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)などとのエステル合成に用いてもよい。本反応において塩基の存在下実施される場合があり、用いられる塩基としては、例えば3級アミン（例、トリメチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、N-メチルピペリジン、N-メチルピロリジン、シクロヘキシルジメチルアミン、N-メチルモルホリン等）、2級アミン（例、ジ-n-ブチルアミン、ジイソブチルアミン、ジシクロヘキシルアミン等）、芳香族塩基（例、ピリジン、4-ジメチルアミノピリジン、ルチジン、コリジン等）、アルカリ金属の水酸化物（例、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等）、アルカリ金属の炭酸塩（例、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素ナトリウム等）、アルカリ土類金属の水酸化物（例、水酸化カルシウム等）などが用いられる。本反応は通常溶媒中で行われる。該溶媒としては、例えばアミド類（例、ホルムアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン等）、スルホキシド類（例、ジメチルスルホキ

シド等）、芳香族塩基類（例、ピリジン等）、ハロゲン化炭化水素類（例、クロロホルム、ジクロロメタン等）、エーテル類（例、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等）、ニトリル類（例、アセトニトリル等）、エステル類（例、酢酸エチル、ギ酸エチル等）など、あるいはこれらの適宜の割合の混合物などが挙げられる。反応温度は、反応が進行する限り特に限定されないが、通常約-50℃ないし150℃、好ましくは-30℃ないし80℃で行われる。反応時間は、用いられる原料、塩基、反応温度、溶媒の種類により異なるが、通常数十分から数十時間反応させる。一般式(1)においてR¹⁰がエステル化されたカルボキシ基である化合物またはその塩は、例えば、一般式(1)においてR¹⁰がカルボキシ基である化合物またはその塩を、エステル化反応に付することにより製造することができる。エステル化反応は、自体公知の方法、例えば、次に示す方法により行われる。

(1) 原料化合物をジアゾアルカン（例、ジアゾメタン、フェニルジアゾメタン、ジフェニルジアゾメタン等）と反応させる。

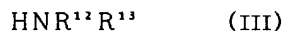
(2) 原料化合物を活性化アルキルハライド（例、ヨウ化メチル、臭化ベンジル等）と反応させる。

(3) 原料化合物を酸触媒または縮合剤の存在下、アルコール（例、メタノール、エタノール、ベンジルアルコール等）と反応させる。酸触媒としては、例えば塩酸、硫酸、カンファースルホン酸等が、縮合剤としては、例えばN,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、塩酸 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド(WSC)、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド(DIC)等が用いられる。

(4) 原料化合物を活性エステルに導き、アルコール（例、メタノール、エタノール、ベンジルアルコール等）と反応させる。活性エステルとしては、例えば1-ヒドロキシ-1H-2-ピリドン、N-ヒドロキシコハク酸イミド、N-ヒドロキシフタルイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール等とのエステルが用いられる。

(5) 原料化合物を酸ハロゲン化物（例、エチルクロロホルメート、ベンジルクロロホルメート等）と反応させ、酸無水物に導き、アルコール（例、メタノール、エタノール、ベンジルアルコール等）と反応させる。本反応において塩基の存在下実施される場合があり、用いられる塩基としては、例えば3級アミン（例、トリメチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、N-メチルピペリジン、N-メチルピロリジン、シクロヘキシルジメチルアミン、N-メチルモルホリン等）、2級アミン（例、ジ-n-ブチルアミン、ジイソブチルアミン、ジシクロヘキシルアミン等）、芳香族塩基（例、ピリジン、ルチジン、コリジン等）、アルカリ金属の水酸化物（例、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等）、アルカリ金属の炭酸塩（例、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、

炭酸水素ナトリウム等)、アルカリ土類金属の水酸化物(例、水酸化カルシウム等)などが用いられる。本反応は通常溶媒中で行われる。該溶媒としては、例えばアミド類(例、ホルムアミド、N、N-ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン等)、スルホキシド類(例、ジメチルスルホキシド等)、芳香族塩基類(例、ピリジン等)、ハロゲン化炭化水素類(例、クロロホルム、ジクロロメタン等)、エーテル類(例、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等)、ニトリル類(例、アセトニトリル等)、エステル類(例、酢酸エチル、ギ酸エチル等)、アルコール類(例、メタノール、エタノール等)など、あるいはこれらの適宜の割合の混合物などが挙げられる。反応温度は、反応が進行する限り特に限定されないが、通常約-50℃ないし150℃、好ましくは約-30℃ないし80℃で行われる。反応時間は、用いられる原料、塩基、反応温度、溶媒の種類により異なるが、通常数十分から数十時間反応させる。一般式(I)においてR¹⁰がアミド化されたカルボキシル基である化合物またはその塩



〔式中、各記号は前記と同意義を有する〕で表される化合物またはその塩とを反応させることにより行うことができる。カルボン酸の反応性誘導体としては、例えば、酸ハライド、活性エステルなどが用いられ、このような反応性誘導体を具体的に述べると次の通りである。

(1) 酸ハライド

ここで酸ハライドとしては、例えば、酸クロリド、酸ブロミドなどが用いられる。

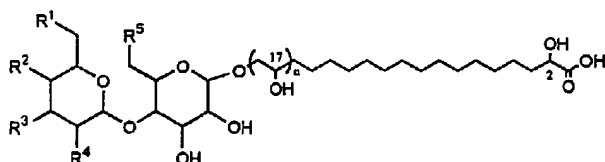
(2) 活性エステル

ここで活性エステルとしては、例えば、メチルエステル、エチルエステル、メトキシメチルエステル、プロパルギルエステル、4-ニトロフェニルエステル、2,4-ジニトロフェニルエステル、トリクロロフェニルエステル、ペンタクロロフェニルエステル、メシルフェニルエステルなどのエステルの他、1-ヒドロキシ-1H-2-ピリドン、N-ヒドロキシこはく酸イミド、N-ヒドロキシフタルイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)などのエステルが用いられる。カルボン酸と直接反応させる場合には、例えば、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、塩酸 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド(WSC)、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド(DIC)などの縮合剤が用いられる。これらの縮合剤は、上述の活性エステル、例えば1-ヒドロキシ-1H-2-ピリドン、N-ヒドロキシこはく酸イミド、N-ヒ

ドロキシフタルイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)などのエステル合成に用いてもよい。本反応において塩基の存在下実施される場合があり、用いられる塩基としては、例えば3級アミン(例、トリメチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、N-メチルピペリジン、N-メチルピロリジン、シクロヘキシルジメチルアミン、N-メチルモルホリン等)、2級アミン(例、ジ-n-ブチルアミン、ジイソブチルアミン、ジシクロヘキシルアミン等)、芳香族塩基(例、ピリジン、ルチジン、コリジン等)、アルカリ金属の水酸化物(例、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等)、アルカリ金属の炭酸塩(例、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素ナトリウム等)、アルカリ土類金属の水酸化物(例、水酸化カルシウム等)などが用いられる。本反応は通常溶媒中で、一般式(I)においてR¹⁰がカルボキシル基である化合物に対して、一般式(III)で表される化合物を0.5ないし10モル等量用いて行なわれる。該溶媒としては、例えば、アミド類(例、ホルムアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン等)、スルホキシド類(例、ジメチルスルホキシド等)、芳香族塩基類(例、ピリジン等)、ハロゲン化炭化水素類(例、クロロホルム、ジクロロメタン等)、エーテル類(例、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等)、ニトリル類(例、アセトニトリル等)、エステル類(例、酢酸エチル、ギ酸エチル等)など、あるいはこれらの適宜の割合の混合物などが用いられる。反応温度は、反応が進行する限り特に限定されないが、通常約-50℃ないし150℃、好ましくは約-30℃ないし80℃で行われる。反応時間は、用いられる原料、塩基、反応温度、溶媒の種類により異なるが、通常数十分から数十時間反応させる。一般式(I)においてR¹がアシルオキシ基、R²が水酸基である化合物またはその塩は、例えば、一般式(I)においてR¹が水酸基、R²がアシルオキシ基である化合物またはその塩を、酸性条件下転移反応に付することにより製造することができる。使用される酸の好適な例としては、例えば有機酸(例、ギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸等)、無機酸(例、塩酸、硫酸、臭化水素酸等)が挙げられる。本反応は通常溶媒中で行われる。該溶媒としては、例えばアミド類(例、ホルムアミド、N、N-ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン等)、スルホキシド類(例、ジメチルスルホキシド等)、ハロゲン化炭化水素類(例、クロロホルム、ジクロロメタン等)、エーテル類(例、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン等)、ニトリル類(例、アセトニトリル等)、エステル類(例、酢酸エチル、ギ酸エチル等)、ケトン類(例、アセトン、メチルイソブチルケトン等)など、あるいはこれらの適宜の割合の混合物などが挙げられる。反応温度は、反応が進行

する限り特に限定されないが、通常約 -50°C ないし 150°C 、好ましくは約 0°C ないし 120°C で行われる。反応時間は、用いられる原料、酸、反応温度、溶媒の種類により異なるが、通常数十分から数十時間反応させる。

【0024】一般式(1)において R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^7 、 R^8 または R^9 が水酸基である化合物またはその塩は、例えば式(1)において R^1 、 R^1 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^7 、 R^8 または R^9 がアシルオキシ基である化合物またはその塩を、塩基性条件下加水分解反応に付すことにより製造することができる。使用される塩基の好適な例としては、例えばアルカリ金属の水酸化物(例、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等)、アルカリ金属の炭酸塩(例、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素ナトリウム等)、アルカリ土類金属の水酸化物(例、水酸化カルシウム等)などが挙げられる。*



【0026】

化合物番号	n	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5
1 (AFB-8-A ₁)	1	OH	OAc	OAc	OAc	OAc
2 (AFB-8-A ₂)	1	OH	OH	OAc	OAc	OAc
3 (AFB-8-B ₁)	0	OH	OAc	OAc	OAc	OAc
4 (AFB-8-B ₂)	0	OH	OH	OAc	OAc	OAc
5	1	OAc	OH	OAc	OAc	OAc
6	0	OAc	OH	OAc	OAc	OAc
7	1	OH	OH	OH	OH	OH

(但し、OAcはアセトキシ基を示す)

式(1)で表される化合物またはその塩は以下化合物(1)と称することもある。

【0027】本発明の化合物(1)の塩としては薬理的に許容しうる塩基付加塩または酸付加塩があげられる。塩基付加塩としては、例えばアルカリ金属(例、ナトリウム、カリウム等)との塩あるいはアルカリ土類金属(例、カルシウム、マグネシウム等)との塩などが挙げられる。酸付加塩としては、例えば無機酸(例、塩酸、臭化水素、ヨウ化水素、硫酸、リン酸等)との塩あるいは有機酸(例、酢酸、プロピオン酸、乳酸、コハク酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、グルコン酸、アスコルビン酸、安息香酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、ケイ皮酸、フマル酸、リンゴ酸、シュウ酸等)との塩などが挙げられる。本発明の化合物(1)は、自体公知の手段、例えば、溶媒抽出、液性交換、転溶、晶出、再結晶、クロマトグラフィーなどによって単離、精製することができる。また、本発明の化合物

(1)の原料化合物またはその塩は、前記と同様の公知

* 本反応は通常、水溶液中または水を含有する溶媒中で行われる。該溶媒としては、例えばアルコール類(例、メタノール、エタノール等)、アミド類(例、ホルムアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン等)、スルホキシド類(例、ジメチルスルホキシド等)、エーテル類(例、テトラヒドロフラン、ジオキサン等)、ニトリル類(例、アセトニトリル等)など、あるいはこれらの適宜の割合の混合物などが挙げられる。反応温度は、反応が進行する限り特に限定されないが、通常約 -50°C ないし 150°C 、好ましくは約 -30°C ないし 80°C で行われる。反応時間は、用いられる原料、塩基、反応温度、溶媒の種類により異なるが、通常数十分から数十時間反応させる。

【0025】後述の実施例によって得られた化合物の構造式を下記に示す。

【化6】

の手段などによって単離、精製することができるが、単離することなくそのまま反応混合物として次の工程の原料として供されてもよい。本発明の化合物(1)が、光学異性体、立体異性体、位置異性体または回転異性体を含有する場合には、これらも本発明の化合物に包含されたとともに、自体公知の合成手法、分離手法によりそれぞれ単品として得ることができる。例えば、本発明の化合物に光学異性体が存在する場合には、該化合物から分割された光学異性体も本発明に包含される。光学異性体は自体公知の方法により製造することができる。具体的には、光学活性な合成中間体を用いるかもしくは最終物のラセミ体の混合物を常法に従って光学分割することにより光学異性体を得る。

【0028】光学分割法としては、自体公知の方法、例えば、下記の分別再結晶法、キラルカラム法、ジアステレオマー法などが用いられる。

(1) 分別再結晶法

ラセミ体と光学活性な化合物とで塩を形成させ、これを

分別再結晶法によって分離し、所望により、中和工程を経てフリーの光学異性体を得る方法。

(2) キラルカラム法

ラセミ体またはその塩を光学異性体分離用カラム（キラルカラム）にかけて分離する方法。例えば、液体クロマトグラフィーの場合、ENANTIO-OMV（トーソー社製）などのキラルカラムに光学異性体の混合物を添加し、水、種々の緩衝液（例、リン酸緩衝液など）、有機溶媒（例、エタノール、メタノール、アセトニトリルなど）を単独あるいは混合した溶液として展開させることにより、光学異性体を分離する。また、例えば、ガスクロマトグラフィーの場合、CP-Chirasil-DeXCB（ジエールサイエンス社製）などのキラルカラムを使用して分離する。

(3) ジアステレオマー法

ラセミ体の混合物を光学活性な試薬と化学反応によってジアステレオマーの混合物とし、これを通常の分離手段（例えば、分別再結晶、クロマトグラフィー法など）などを経て単一物質とした後、加水分解反応などの化学的な処理により光学活性な試薬部位を切り離すことにより光学異性体を得る方法。例えば、本発明の化合物が分子内に水酸基または1ないし2級アミノ基を有する場合、該化合物と光学活性な有機酸（例えば、MTPA〔 α -メトキシ- α -(トリフルオロメチル)フェニル酢酸〕、(-)-メントキシ酢酸など）などと縮合反応に付すことにより、それぞれエステル体またはアミド体のジアステレオマーが得られる。一方、本発明の化合物がカルボン酸を有する場合、該化合物と光学活性アミンまたはアルコール試薬とを縮合反応に付すことにより、それぞれアミド体またはエステル体のジアステレオマーが得られる。分離されたジアステレオマーは、酸加水分解あるいは塩基性加水分解反応に付すことにより、もとの化合物の光学異性体に変換される。

【0029】本発明の化合物(I)は、毒性が低く、優れた医薬用生理活性作用を有し、例えば真菌感染症の予防又は治療に有効である。従って、本発明の化合物

(I)を含有する本発明製剤は、例えば安全な抗真菌剤などとして、ヒト等の哺乳動物（例えば、人、犬、猫、サル、ラット、マウス、馬、牛等）に経口的又は非経口的に投与することができ、通常経口的な投与が好ましい。経口投与する場合の剤形の例としては、例えば錠剤（糖衣錠、フィルムコーティング錠を含む）、丸剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤（ソフトカプセル剤を含む）、シロップ剤、乳剤、懸濁剤等があげられる。また、非経口投与する場合の剤形としては、例えば注射剤、注入剤、点滴剤、坐剤等があげられる。本発明製剤中の化合物(I)の含有量は、通常2〜85重量%、好ましくは5〜70重量%である。化合物(I)を上記の剤形に製造する方法としては、当該分野で一般的に用いられている公知の製造方法を適用することができる。また、上記

の剤形に製造する場合には、必要に応じて、その剤形に製する際に製剤分野において通常用いられる賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、甘味剤、界面活性剤、懸濁化剤、乳化剤等を適宜、適量含有させて製造することができる。例えば、化合物(I)を錠剤に製する場合には、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤等を含有させて製造することができ、丸剤及び顆粒剤に製する場合には、賦形剤、結合剤、崩壊剤等を含有させて製造することができる。また、散剤及びカプセル剤に製する場合には、賦形剤等を、シロップ剤に製する場合には、甘味剤等を、乳剤及び懸濁剤に製する場合には、懸濁化剤、界面活性剤、乳化剤等を含有させて製造することができる。賦形剤の例としては、乳糖、白糖、ブドウ糖、でんぷん、蔗糖、微結晶セルロース、カンゾウ末、マンニトール、炭酸水素ナトリウム、リン酸カルシウム、硫酸カルシウム等があげられる。結合剤の例としては、5〜10重量%デンプンのり液、10〜20重量%アラビアゴム液又はゼラチン液、1〜5重量%トラガント液、カルボキシメチルセルロース液、アルギン酸ナトリウム液、グリセリン等があげられる。崩壊剤の例としては、でんぷん、炭酸カルシウム等があげられる。滑沢剤の例としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、ステアリン酸カルシウム、精製タルク等があげられる。甘味剤の例としては、ブドウ糖、果糖、転化糖、ソルビトール、キシリトール、グリセリン、単シロップ等があげられる。界面活性剤の例としては、ラウリル硫酸ナトリウム、ポリソルベート80、ソルビタンモノ脂肪酸エステル、ステアリン酸ポリオキシシル40等があげられる。懸濁化剤の例としては、アラビアゴム、アルギン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ベントナイト等があげられる。乳化剤の例としては、アラビアゴム、トラガント、ゼラチン、ポリソルベート80等があげられる。更に、本発明化合物(I)を上記の剤形に製造する場合には、所望により、製剤分野において通常用いられる着色剤、保存剤、芳香剤、矯味剤、安定剤、粘稠剤等を適宜、適量添加することができる。化合物(I)又はその塩を含有する本発明製剤は、安定かつ低毒性で安全に使用することができる。その1日の投与量は患者の状態や体重、化合物の種類、投与経路等によって異なるが、経口的に投与する場合、通常化合物(I)又はその塩を有効成分として、1日真菌感染症患者成人（体重50Kg）1人当たり約2mgないし1g、とりわけ約10mgないし500mgが疾病の治療に用いられることが好ましい。これらの製剤は、1日1〜3回に分けて投与することができる。本発明の化合物あるいはその塩を、注射剤として非経口的に皮下、静脈内または筋肉内に投与する場合、その投与量は1日真菌感染症患者成人1人当たり約1mgないし200mg、好ましくは2mgないし100mgである。

【0030】

【発明の実施の形態】以下に実施例、実験例、製剤例を挙げて、本発明を更に具体的に説明するが、これによって本発明が限定されるものではない。なお、培地におけるパーセント(%)は、特に断りのない限り、重量/容量パーセントを表す。混合溶媒において混合比を示した数値は各溶媒の容量混合比である。NMRスペクトルは、ブルカーAM300型スペクトルメーターを用いて測定した。内部基準としてテトラメチルシランを用い、全 δ 値をppmで示した。

【0031】

【実施例】実施例1 AFB-8の培養

ペプトン-酵母エキースブドウ糖斜面寒天培地に培養したクリプトコックス・エスピーAFB-8株を2L容坂口フラスコ内のグルコース2%、麦芽エキス2%、ポリペプトン0.1%を含む500 mlの種培地(pH 6.4)に接種し、28.0℃、2日間往復振とう機上で培養した。この培養液1Lを200 L容タンク内のグルコース2%、麦芽エキス2%、ポリペプトン0.1%、および消泡剤としてアクトコール0.02%、シリコン0.02%を含む120 Lの主培地(pH 6.2)に接種し、毎分50 Lの無菌空気を通気しながら、回転数毎分100回転で28.0℃、3日間培養し、主培養液を得た。

【0032】実施例2 AFB-8-A₁(化合物1)、A₂(化合物2)、B₁(化合物3)およびB₂(化合物4)の単離

実施例1で得られた培養液(120リットル)のpHを3.0に調整後、酢酸エチル(100リットル)で抽出し、濾過補助剤(ラジオライト#600、昭和化学工業社製)を用いて濾過した。得られた有機層を水(30リットル)で洗浄後、濃縮し乾固物(79g)を得た。得られた乾固物をシリカゲル(キーゼルゲル60、500g)のカラムクロマトグラフィーに付し、クロロホルム/メタノール/酢酸[98:2:1(6リットル)、95:5:1(8リットル)、90:10:1(6リットル)、80:20:1(6リットル)および50:50:1(4リットル)]で溶出分画(30x1リットル)した。Fr. 8および9を濃縮してAFB-8-B₁を含有する画分(19.3g)を得た。同様にしてFr. 11から16よりA₁含有画分(14.2g)、Fr. 17から22よりB₂含有画分(9.2g)およびFr. 24から28よりA₂含有画分(6.9g)を得た。A₁含有画分は、酢酸エチル(600ml)に加熱溶解し、室温に静置した。生じた析出物をろ取り、AFB-8-A₁(化合物1、9.2g)を得た。A₂含有画分はメタノール(50ml)に溶解し、LH-20(2.4リットル)のカラムクロマトグラフィーに付し、メタノールで溶出分画(100mlx30)した。有効画分(Fr. 9から11)を濃縮し、A₂含有乾固物(4.2g)を得た。A₂含有乾固物は3回に分けて分取HPLC[カラム: LH50HJ 50mmI.D.x 210 mm (栗

田工業社製)、充填剤: YMC ODS-AM120-S10(ワイエムシイ社製)、移動相: 45%(v/v)アセトニトリル/0.1%トリフルオロ酢酸、流速: 40ml/分]に付し、溶出容量1500-2300mlの画分を集め、減圧下アセトニトリルを留去し、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後濃縮し、濃縮物(1.9g)を得た。濃縮物を3回に分けて再び分取HPLC[カラム: YMC-Pack SH-363-15, ODS(ワイエムシイ社製)、移動相: 45%(v/v)アセトニトリル/0.1%トリフルオロ酢酸、流速: 12ml/分]に付し、溶出容量700-840mlの画分を集め、減圧下アセトニトリルを留去し、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮乾固して、AFB-8-A₂(化合物2、790mg)を得た。B₁含有画分はメタノール(80ml)に溶解し、2回に分けてLH-20(2.4リットル)のカラムクロマトグラフィーに付し、メタノールで溶出分画(100mlx30)した。有効画分(1回目: Fr. 14から19、2回目: Fr. 14から17)を濃縮し、B₁含有粉末(12.1g)を得た。B₁含有粉末をシリカゲル(キーゼルゲル60、160g)のカラムクロマトグラフィーに付し、クロロホルム/メタノール/酢酸[98:2:1(400ml)、95:5:1(2000ml)、90:10:1(400ml)]で溶出分画(14x200ml)した。Fr. 9から14を集め、濃縮しB₁を含む粉末(4.7g)を得た。得られた粉末を酢酸エチル(200ml)に加熱溶解し、放冷後生じた析出物(2.4g)をろ取した。得られた析出物を再度酢酸エチル(100ml)に加熱溶解し、放冷後生じた析出物をろ取り、AFB-8-B₁(化合物3、1.3g)を得た。ろ液は濃縮し、同様に酢酸エチル(300ml、100ml)に加熱溶解後、析出させる操作を行い、さらにAFB-8-B₁(化合物3、1.1g)を得た。B₂含有画分のうち4.2gを6回に分けて分取HPLC[カラム: YMC-Pack SH-363-15, ODS(ワイエムシイ社製)、移動相: 50%(v/v)アセトニトリル/0.1%トリフルオロ酢酸、流速: 12ml/分]に付した。溶出容量480-520mlの画分を集め、減圧下アセトニトリルを留去し、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮乾固して、AFB-8-B₂(化合物4、650mg)を白色粉末として得た。

【0033】実施例3 化合物5の調製

AFB-8-A₁(化合物1、824mg)を4-メチル-2-ペンタノン(225ml)と酢酸(25ml)の混液に懸濁し、100℃で4時間攪拌した。冷後、反応液を減圧濃縮し得られた乾固物(1.2g)を、分取HPLC[カラム: YMC-Pack SH-363-15, ODS(ワイエムシイ社製)、移動相: 50%(v/v)アセトニトリル/0.1%トリフルオロ酢酸、流速: 12ml/分]に付

した。溶出容量560-620mlの画分を集め、減圧下アセトニトリルを留去し、酢酸エチルで抽出した。また溶出容量620-700mlの画分は、減圧下アセトニトリルを留去し、酢酸エチルで抽出後、再度同条件で分取HPLCに付した。溶出容量600-660mlの画分を集め、減圧下アセトニトリルを留去し、酢酸エチルで抽出した。2回の分取HPLCで得られた酢酸エチル抽出液を合わせて水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮乾固して、化合物5(210mg)を粉末として得た。

FAB-マッススペクトル; m/z 823 (M-H)⁺

¹³C NMR スペクトル: 75 MHz, DMSO-d₆ 中, δ ppm, 以下のシグナルが認められる。

175.8, 170.2, 170.1, 169.6, 169.1, 102.9, 99.1, 80.3, 74.7, 74.1, 73.7, 73.1, 71.3, 71.2, 69.5, 68.9, 67.6, 62.9, 62.8, 33.8, 33.0, 29.1, 29.0, 28.9, 28.7, 24.9, 24.6, 20.6, 20.5, 20.2

【0034】実施例4 化合物6の調製

AFB-8-B₁ (化合物3, 800mg) を4-メチル-2-ペンタノン(225ml)と酢酸(25ml)の混液に懸濁し、115℃で10時間攪拌した。冷後、反応液を減圧濃縮し得られた乾固物(1.08g)を、分取HPLC〔カラム; YMC-Pack SH-363-15, ODS (ワイエムシイ社製)、移動相; 55%(v/v)アセトニトリル/0.1%トリフルオロ酢酸、流速; 12ml/分〕に付した。溶出容量420-500mlの画分を集め、減圧下アセトニトリルを留去し、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮乾固して、化合物6(206mg)を粉末として得た。

FAB-マッススペクトル; m/z 779 (M-H)⁺

¹³C NMR スペクトル: 75 MHz, DMSO-d₆ 中, δ ppm, 以下のシグナルが認められる。

175.9, 170.2, 170.2, 169.6, 169.1, 102.4, 99.2, 80.5, 74.8, 74.1, 73.2, 73.1, 71.3, 71.2, 69.5, 68.8, 67.7, 63.0, 62.8, 33.9, 29.2, 29.0, 29.0, 28.8, 28.8, 25.4, 24.7, 20.6, 20.5, 20.2

【0035】実施例5 化合物7の調製

AFB-8-A₁ (化合物1, 412mg) をメタノール(40ml)に溶解し、0.1N水酸化ナトリウム水溶液(10ml)を混和し、室温で1.5時間攪拌し *

た。反応液を0.1N塩酸で中和後、減圧濃縮しメタノールを留去した。水(100ml)を加え、0.1N塩酸でpH3に調整後、生じた析出物をろ取し、化合物7(280mg)の白色粉末を得た。

FAB-マッススペクトル; m/z 655 (M-H)⁺

¹³C NMR スペクトル: 75 MHz, DMSO-d₆ 中, δ ppm, 以下のシグナルが認められる。

175.8, 103.1, 80.4, 76.7, 76.3, 74.7, 74.6, 74.2, 73.2, 69.9, 69.5, 68.9, 60.9, 60.3, 33.8, 33.0, 29.1, 29.0, 28.9, 28.7, 25.0, 24.6

【0036】実験例1

in vitro 抗菌試験: 真菌および細菌に対するin vitro 抗菌活性試験

AFB-8関連化合物の抗菌活性は、試験真菌として、アスペルギルス・フミガーツスTIMM1728菌(Aspergillus fumigatus TIMM1728)およびアスペルギルス・ニガーIFO4414菌(Aspergillus niger IFO4414)、試験細菌として、エシェリキア・コリIFO3301菌(Escherichia coli IFO3301)およびバシラス・サチリスNIH PCI219菌(Bacillus subtilis NIH PCI219)を使用し、以下の方法〔寒天希釈(aqar dilution)法〕によって測定した。化合物をメタノールに溶解し、メタノールで2倍ずつ段階的に希釈することによって被検サンプルを調製した。培地として、アスペルギルス・フミガーツスおよびアスペルギルス・ニガーは麦芽エキス培地(麦芽エキス2%、グルコース2%、ポリペプトン0.1%、寒天0.8%、pH 6.4)、エシェリキア・コリおよびバシラス・サチリスはブイヨン培地(肉エキス1%、ポリペプトン1%、食塩0.1%、寒天0.8%、pH 7.0)を使用した。測定用培地に、あらかじめ調製しておいた孢子または細胞懸濁液を、アスペルギルス・フミガーツスおよびアスペルギルス・ニガーは10⁵ cfu/ml、エシェリキア・コリおよびバシラス・サチリスは10⁷ cfu/mlとなるように接種し、段階希釈した被検サンプルを添加したあと、28℃、4日間培養した。培養後、菌株の発育を肉眼で観察し、発育が観察されない最低濃度を被検サンプルのMIC値(最小発育阻止濃度)とした。化合物のMIC値は表2の通りであった。

【0037】

【表2】

被検菌	MIC 値, mg/ml		
	化合物 1	化合物 2	化合物 5
Aspergillus fumigatus TIMM1728	50	25	25
Aspergillus niger IFO4414	12.5	12.5	12.5
Bacillus subtilis NIH PCI219	>100	>100	>100
Escherichia coli IFO3301	>100	>100	>100

【0038】実験例2

In vivo試験例

感染4日前に免疫抑制剤サイクロフォスファミドを腹腔

投与(200 mg/kg)して感染防御能を低下させたマウス(Crj:CD1, 雌, 6週齢)にA. fumigatus TIMM1728の菌体孢子をマウスあたり1.5 × 10⁵ cfu(150,000cfu)静脈内に接

種した。検体は0.5%メチルセルロース溶液に懸濁し、感染2時間後に初回投与、感染翌日から一日3回ずつ2日間、合計7回経口投与した。マウスの死亡経過を観察し、感染10日目の各群の生存数と平均生存日数を表3に*

* 記した。

【0039】

【表3】

検体	投与量 (mg/kg)	感染10日目の 生存数(n=7)	平均生存日数
コントロール	0	0	3.9±1.5
化合物1	50	4	7.3±3.5*
化合物2	50	5	7.3±3.0*
化合物5	50	4	7.3±2.9*

* P<0.05

【0040】表3に示したように、未投与群は感染8日目までに全例(7/7)死亡したが、化合物1、2または5投与群では感染10日目ですれぞれ4/7、5/7、4/7例が生

【0041】製剤例

本発明の化合物またはその塩を有効成分として含有する 20 真菌感染症治療剤として使用する場合、次のような処方によって製造することができる。

1. カプセル剤

(1) AFB-8-A₁ 100mg

(2) ラクトース 90mg

(3) 微結晶セルロース 70mg

(4) ステアリン酸マグネシウム 10mg

1カプセル 270mg

(1)、(2)と(3)の全量及び(4)の1/2を混和した後、顆粒化する。これに残りの(4)を加えて全体をゼラチンカ 30 プセルに封入する。

2. 錠剤

(1) AFB-8-A₁ 100mg

(2) ラクトース 35mg

(3) コーンスターチ 150mg

(4) 微結晶セルロース 30mg

(5) ステアリン酸マグネシウム 5mg

1錠 320mg

(1)、(2)と(3)の全量及び(4)の2/3及び(5)の1/2を混和した後、顆粒化する。これに残りの(4)及び(5)をこの顆粒に加えて錠剤に加圧成型する。

【0042】

【発明の効果】本件化合物(I)またはその塩は、優れた抗真菌作用を有するため、真菌感染症などの安全な予防、治療薬として有用である。

【0043】

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は実施例2で得られたAFB-8-A₁の

¹³C-NMRスペクトルを示す。

【図2】図2は実施例2で得られたAFB-8-A₂の

¹³C-NMRスペクトルを示す。

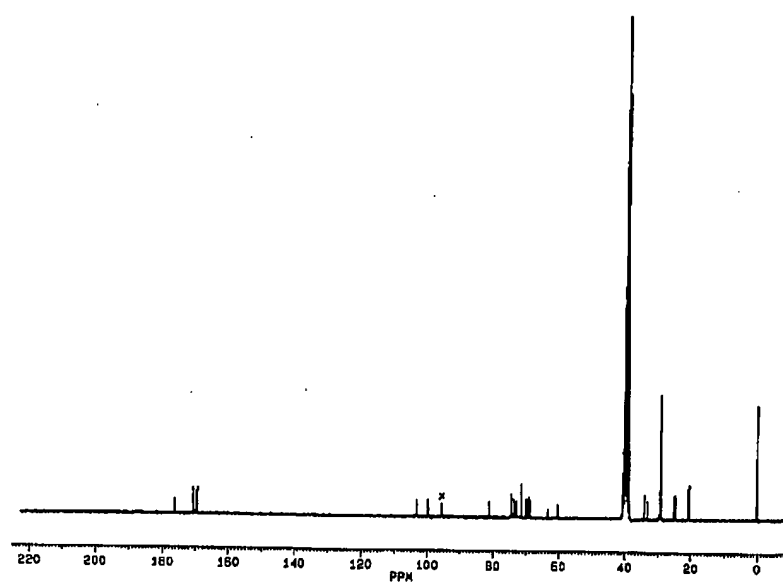
【図3】図3は実施例2で得られたAFB-8-B₁の

¹³C-NMRスペクトルを示す。

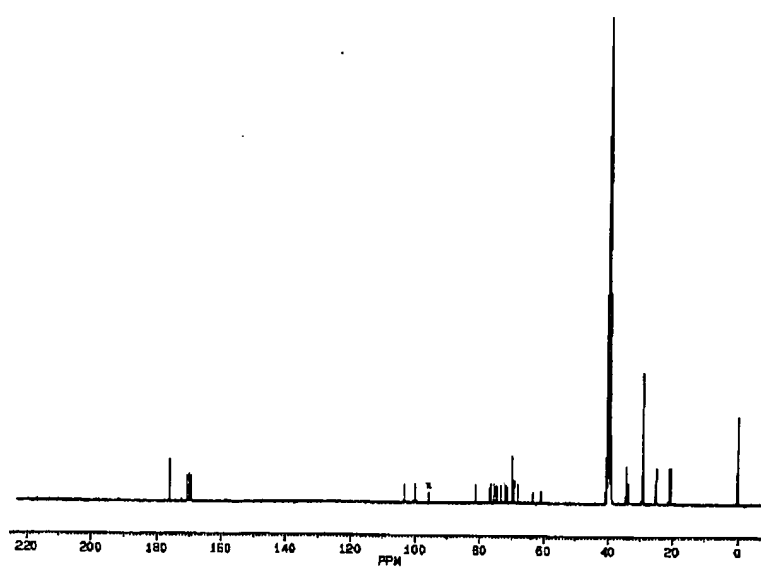
【図4】図4は実施例2で得られたAFB-8-B₂の

¹³C-NMRスペクトルを示す。

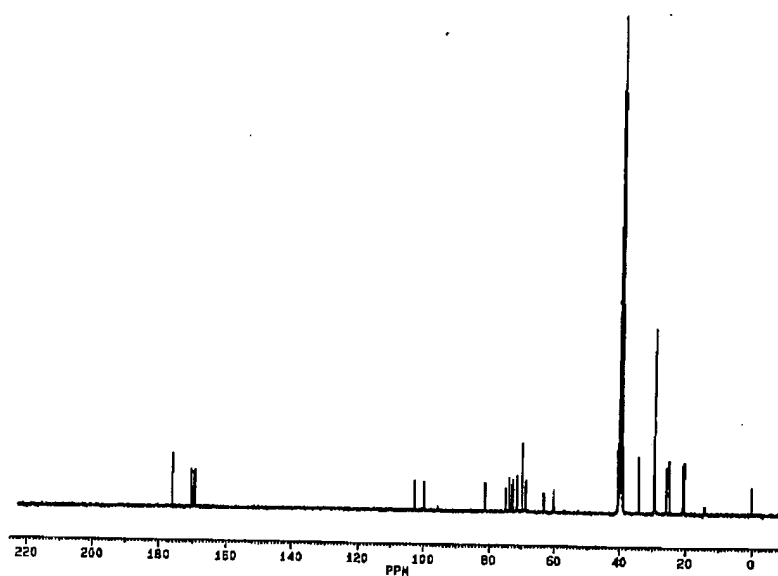
【図1】



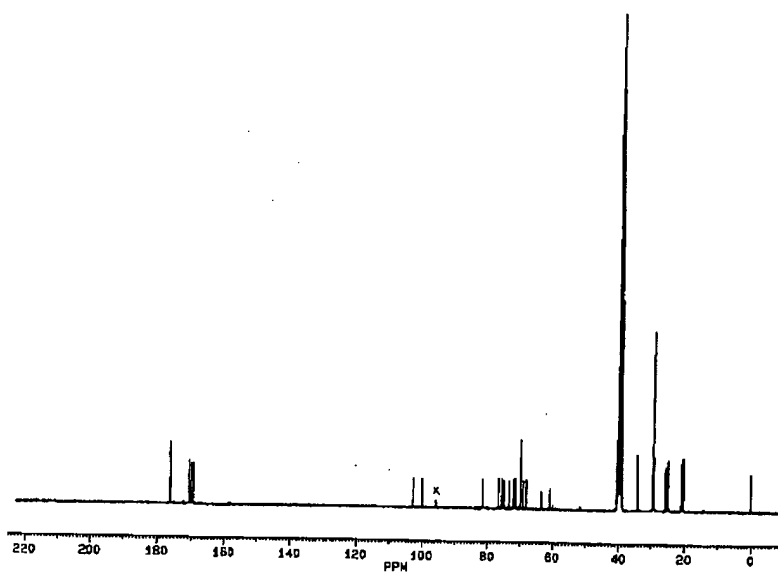
【図2】



【図 3】



【図 4】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

C 1 2 P 19/44

//(C 1 2 P 19/44

C 1 2 R 1:01)

識別記号

F I

C 1 2 P 19/44

テーマコード (参考)

(20)

特開 2 0 0 0 - 1 6 9 4 9 5

(72)発明者 池堂 孝治

兵庫県姫路市別所町小林 6 番地の 4

F ターム(参考) 4B064 AF41 BA08 BA09 BB07 BB18

BG01 BG09 BH01 BH02 BH05

BH06 BH07 BH08 BH10 BH20

CA02 DA03

4B065 AA01X AC14 BA22 CA19

CA44

4C057 AA01 BB03 DD01 JJ05

4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 EA04

MA01 MA04 NA14 ZB35